

Солонский А.В., Потанов А.В., Шумилова С.Н.

**ВЛИЯНИЕ ВНУТРИУТРОБНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЛИОБЛАСТОВ И СОСУДОВ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЭМБРИОНОВ
ЧЕЛОВЕКА**

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Томск, Российская Федерация*

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский
национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук,
Томский научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск,
Российская Федерация*

*В ходе исследования коры головного мозга эмбрионов и плодов человека, развивавшихся в
условиях хронической пренатальной алкогольной интоксикации, был выявлен ряд
морфометрических особенностей развития глиобластов и сосудов микроциркуляторного русла.
Было установлено уменьшение размеров и увеличение количества сосудов, а также выявлено
нарушение нормального паттерна развития глиобластов в сочетании с аналогичным
компенсаторным увеличением среднего количества клеток.*

*Ключевые слова: алкоголь, головной мозг, глиобласты, микроциркуляторное русло,
внутриутробное развитие.*

Solonskii A. V., Potapov A. V., Shumilova S. N.

**INFLUENCE OF INTRAUTERINE ALCOHOL INTOXICATION
ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF GLIOBLASTS AND VESSELS
OF THE MICROCIRCULATORY BED OF THE BRAIN
IN HUMAN EMBRYOS**

*Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia*

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

*During the study of the cerebral cortex of human embryos and fetuses that developed under
conditions of chronic prenatal alcohol intoxication, a number of morphometric features of the
development of glioblasts and microcirculatory vessels were revealed. A decrease in the size and an
increase in the number of vessels in the microvasculature were found, and a violation of the normal
pattern of development of glioblasts was found in combination with a similar compensatory increase in
the average number of cells.*

Key words: alcohol, brain, glioblasts, microvasculature, intrauterine development.

В процессе внутриутробного развития выделяют три критических периода, одним из которых является временной промежуток от момента оплодотворения до 8 недели гестации включительно. Данный период характеризуется активным

органогенезом, в связи с чем воздействие внешних тератогенных факторов может приводить к значительным нарушениям анатомического и гистологического строения органов и тканей. Одной из наиболее уязвимых структур является кора больших полушарий головного мозга (ГМ). Это связано с крайней сложность внутренней организации и необходимостью точной регуляции всех процессов, происходящий в период развития.

В настоящий момент в Российской Федерации наиболее широко распространенным тератогеном является этиловый спирт, входящий в состав алкогольных напитков. Потребителями являются все группы населения, в том числе и женщины в период беременности [1]. Резюмируя вышесказанное, изучение влияния этанола на внутриутробное развитие мозга является приоритетным.

Помимо макроскопических дефектов ГМ, сама нервная ткань претерпевает значительные морфологические изменения. Согласно современным представлениям, влияние пренатальной алкогольной интоксикации на разные типы глиобластов неоднородно и определяется моделью исследования и протоколом эксперимента. Тем не менее, большинство авторов свидетельствует об общей тенденции к сокращению клеточного пула почти всех популяций глиальных клеток за счет нарушения миграции и созревания клеток-предшественников [2]. Реакция сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) также является предметом дискуссии. Часть работ демонстрирует увеличение плотности сосудов, их длины и количества точек ветвления [3]. Другие исследования, напротив, свидетельствуют о снижении плотности сосудов МЦР и потере их радиальной ориентации [4].

Хотя в литературе широко описано влияние этанола на морфологическую структуру ГМ, большинство работ направлены на решение частных задач и не дают полного описания изменений, происходящих с глиобластами и сосудами МЦР вследствие воздействия хронической внутриутробной алкогольной интоксикации.

Цель исследования. Целью данного исследования являлась оценка влияния внутриутробной алкогольной интоксикации на морфометрические показатели глиобластов и сосудов МЦР коры ГМ эмбрионов и плодов человека на разных сроках внутриутробного развития.

Объектом настоящего исследования являлась кора ГМ (сенсомоторная область) эмбрионов и плодов человека, полученных в ходе операций по добровольному искусственному прерыванию беременности. Все процедуры были выполнены с учетом требований этического комитета, участницы были информированы о ходе исследования и предоставили письменное согласие. Возраст женщин варьировал от 25 до 41 лет. Формирование групп основывалось на наличии или отсутствии в анамнезе матери диагноза «Алкоголизм I-II стадии», а также сроке внутриутробного развития. Всего было сформировано четыре группы. Первые две группы включали материал, полученный от психически и соматически здоровых женщин: Контроль1 (К1) – 8-9 недель развития; Контроль2 (К2) – 10-11 недель развития. Следующие две группы включали женщин, страдающих алкоголизмом от 3 до 13 лет: Алкоголь1 (А1) – 8-9 недель развития; Алкоголь2 (А2) – 10-11 недель развития. Всего было получено 26 образцов ГМ.

В ходе подготовки материала к исследованию была выполнена фиксация образцов в 1,5% растворе глутаральдегида на 0,1 М натрий-фосфатном буфере с рН 7,3-7,4 с последующим дофиксированием в 1% растворе оксида осмия. Далее материал был обезвожен в спиртах возрастающих концентраций и заливался в эпоксидные смолы (Araldite, США). Микроскопии были подвергнуты полутонкие срезы (0,5-1 мкм), полученные с помощью ультратома «Ultracut-E» (Reichert, Австрия). Окрашивание проводилось толуидиновым синим согласно общепринятой методике. Световая микроскопия осуществлялась с применением микроскопа AxioScope A1 (CarlZeiss, Германия), для фотосъемки применялась цифровая камера Canon G10.

Морфометрический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения AxioVision 4.8 (Carl Zeiss, Германия). Были измерены следующие показатели: средний диаметр или периметр, средняя площадь глиобластов и сосудов МЦР, а также среднее и удельное (отношение общего количества элементов к площади среза) количество на 1 мм² среза. Кроме того, для сосудов МЦР был выполнен подсчет их удельной площади (отношение суммы площадей всех изучаемых структур на срезе к площади самого среза) в процентах. Для статистического анализа использовали программное обеспечение Statistical10 с применением критерия Манна-Уитни (значимыми считали различия при $P < 0,05$).

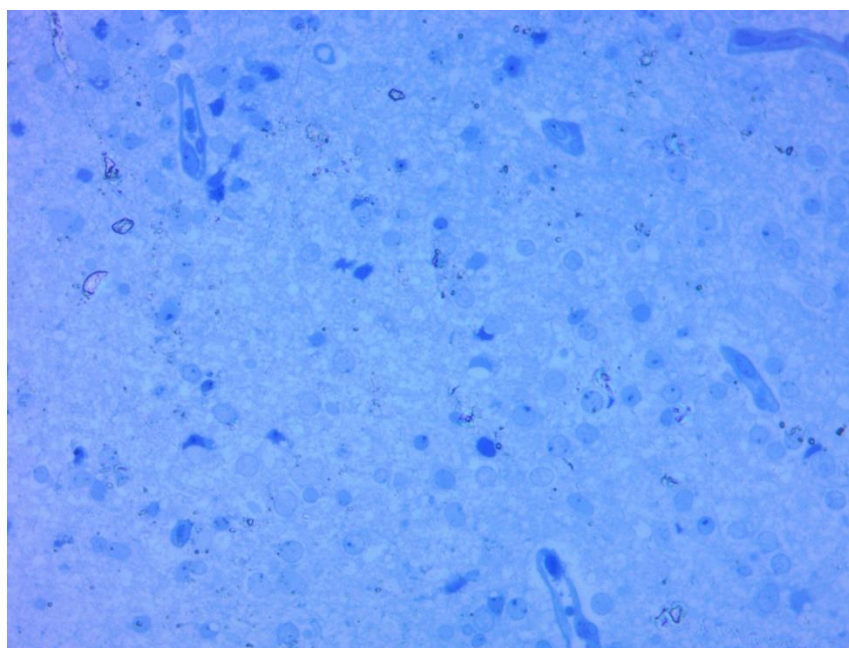


Рис. 1. Головной мозг эмбриона человека 8-9 недель развития, пренатальная алкогольная интоксикация, группа А1 (окраска по Ниссля, ув. 400х.).

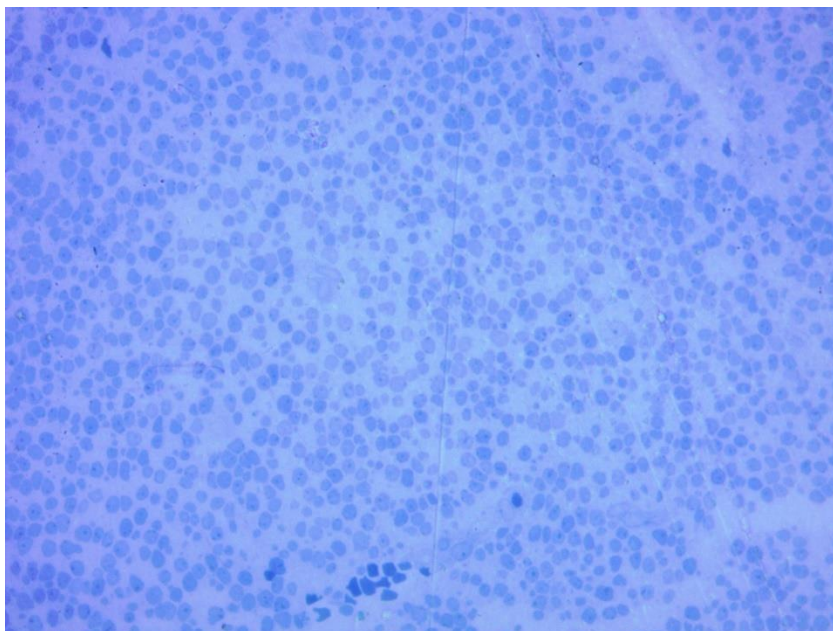


Рис. 2. Головной мозг плода человека 10-11 недель развития, пренатальная алкогольная интоксикация, группа А2 (окраска по Нисслию, ув. 400х.).

В ходе исследования было выявлено, что кора ГМ, развивавшаяся в условиях хронической пренатальной алкогольной интоксикации, претерпевает ряд морфометрически выявляемых изменений.

Характерной особенностью развития сосудов МЦР является отсутствие значимых изменений размеров сосудов, развивавшихся в нормальных условиях, с увеличением срока гестации. Это проявляется отсутствием достоверных различий средней и удельной площадей в подгруппах К1 и К2. При этом, для ткани, развивавшейся в условиях пренатальной алкоголизации, характерно уменьшение средних размеров сосудов МЦР по мере увеличения внутриутробного возраста. Размеры сосудов в группе А1 достоверно больше таковых в группе А2. Кроме того, при сопоставлении данных основной и контрольной групп установлено, что с увеличением срока гестации происходит достоверное уменьшение средней и удельной площадей сосудов МЦР, а также увеличение среднего и удельного количества изучаемых структур в группах А1 и А2 по сравнению с контрольными группами (К1 и К2). Ткань головного мозга, развивавшаяся в условиях хронической

алкоголизации, на более поздних сроках гестации характеризуется уменьшением размеров сосудов и увеличением их плотности на срезе.

Характерной особенностью развития глиобластов обеих групп является уменьшение средних размеров клеток по мере увеличения внутриутробного возраста, что проявляется преобладанием размеров глиобластов в подгруппах К1 и А1 над К2 и А2 соответственно. При этом отмечаются достоверные различия размеров клеток на более ранних сроках развития (8-9 недель), что характеризуется преобладанием размеров глиобластов в группе К1 над таковыми в группе А1. При этом, соответствующие параметры образцов в возрасте 10-11 недель достоверных различий не имеют. Также в данном случае установлено увеличение среднего количества глиобластов в алкогольных группах (А1 и А2) на всех изученных сроках.

Таблица 1

Морфометрические показатели сосудов МЦР в группах

Анализируемый показатель	Средняя площадь, мкм ²	Удельная площадь сосудов, %	Количество сосудов на 1 мм ² , шт.
Контроль1 (К1)	78,0	0,42	52
Контроль 2 (К2)	83,3	0,77	91
Алкоголь1 (А1)	75,7	0,40	52
Алкоголь2 (А2)	48,5	0,37	136

Таблица 2

Морфометрические показатели глиобластов в группах

Анализируемый показатель	Средняя площадь, мкм ²	Средний периметр, мкм	Количество клеток на 1 мм ²
Контроль1 (К1)	32,	23,9	75
Контроль 2 (К2)	13,3	15,0	160
Алкоголь1 (А1)	21,3	19,1	121
Алкоголь2 (А2)	12,9	14,8	263

Таким образом, пренатальная алкогольная интоксикация оказывает значительное влияние на морфометрические показатели глиобластов и сосудов МЦР коры ГМ эмбрионов и плодов человека, что проявляется изменением размеров и количества исследуемых клеток и, как следствие, диспропорциональностью развития всей ткани. Указанные изменения прогрессируют с увеличением срока развития.

Литература:

1. Lebedeva-Nesevria N., Zhdanova-Zaplesvichko, I.G., Rerke, V.I., Barg, A.. (2017). ALCOHOL CONSUMPTION AS A FACTOR CAUSING RISKS FOR POPULATION HEALTH (RUSSIAN RESEARCH REVIEW). Health Risk Analysis. 147-160. 10.21668/health.risk/2017.4.15.
2. Wilhelm C.J, Guizzetti M. Fetal Alcohol Spectrum Disorders: An Overview from the Glia Perspective. Front.Integr.Neurosci. 2016 Jan11; 9:65. <https://doi.org/10.3389/fnint.2015.00065>
3. Siqueira M, Araujo APB, Gomes FCA, Stipursky J. Ethanol Gestational Exposure Impairs Vascular Development and Endothelial Potential to Control BBB-Associated Astrocyte Function in the Developing Cerebral Cortex. Mol.Neurobiol. 2021 Apr;58(4):1755-1768. doi: 10.1007/s12035-020-02214-8.
4. Jégou S, El Ghazi F, de Lendeu PK, Marret S, Laudenbach V, Uguen A, Marcorelles P, Roy V, Laquerrière A, Gonzalez BJ. Prenatal alcohol exposure affects vasculature development in the neonatal brain. Ann.Neurol. 2012;72:952–960. doi: 10.1002/ana.23699.